УДК 543.42

АТОМНО-ЭМИССИОННАЯ МЕТОДИКА АНАЛИЗА ГРИБОВ НА СОДЕРЖАНИЕ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЕЕ ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ЭКОМОНИТОРИНГА

В.И. Отмахов, Е.В. Петрова, Т.Н. Пушкарева, Г.П. Островерхова

Томский государственный университет
E-mail: otmahov2004@mail.ru

Описана новая методика атомно-эмиссионного определения тяжелых металлов в грибах, используемых в качестве биоиндикаторов загрязнения окружающей среды в экологически опасных районах. При разработке методики учтены специфические особенности исследуемого объекта, обусловленные наличием сложной матрицы зольных остатков грибов, полученных на стадии пробоподготовки. Кинетические и термодинамические исследования высокотемпературных процессов, протекающих в плазме дугового разряда, позволили оптимизировать проведение спектрального анализа, а метрологическая аттестация — обеспечить получение достоверных результатов.

Введение

Мониторинг природных сред и объектов (вода, воздух, почва, растения, животные) – актуальное научное направление в экологических исследованиях. Из биологических объектов в качестве индикаторов накопления тяжелых металлов (ТМ) наиболее известны лишайники (Pb, Cu, Ni), мхи (Mn, Cd, Pb, Zn). Что касается грибов, то они более изучены как биоиндикаторы накопления радионуклидов.

Грибы – высшие базидиальные, или макромицеты (преимущественно шляпочные) – своеобразные гетеротрофные организмы, несущие определенную функциональную нагрузку в лесных экосистемах. Взаимосвязи грибов с внешней средой разнообразны и сложны. Они осуществляются через атмосферу, растения, почву, животных, микроорганизмы и могут быть положительными или отрицательными, специфическими или универсальными, контактными или опосредованными. Грибы являются важными звеньями двух типов пищевых цепей: 1) начинающихся живыми растениями (продуцентами) – это микоризообразующие и паразитные грибы; 2) начинающихся разлагающейся органикой (детритных) – это подстилочные и гумусовые сапротрофы, ксилотрофы и др. При этом известно, что грибы являются мощными аккумуляторами различных веществ, в том числе и загрязняющих (тяжелые металлы, радионуклиды).

Грибы являются субстратом для многих видов различных организмов, среди которых только беспозвоночных животных известно свыше 500 видов. Особое место среди потребителей грибного субстрата занимают мицетофаги – личинки грибных комаров и мух. Они разлагают плодовые тела грибов, наполняя их азотистыми продуктами своей жизнедеятельности. Гриб образует своеобразную биосистему "гриб-мицетофаг" – мицетоконсорцию, через которую идет поток вещества, энергии и т.д.

Грибы для человека являются излюбленным объектом природопользования и составляют значительную часть пищевого рациона сибирского населения. Поэтому грибы с накопленными в них веществами, в том числе и ядовитыми, могут быть источником поступления их в организм человека.

Поскольку почти все ТМ токсичны, особенно биофилы (Cu, Zn, V), зоофобы (Cd), биофобы (Pb), то наобходим контроль загрязнения ими природных сред. В связи с этим исключительно важна задача по разработке атомно-эмиссионной методики определения ТМ в таком своеобразном субстрате, как грибы.

1. Подготовка пробы к анализу

При разработке методики атомно-эмиссионного анализа (АЭА) важнейшим этапом является процесс пробоподготовки, который имеет некоторую

специфику в отношении к биологическим объектам и продуктам их переработки. Определение микроэлементов в таких субстратах рекомендуется проводить после минерализации исследуемых проб. Во всех случаях процессу минерализации предшествует первичная сушка, которая проводится на воздухе в марлевых мешочках, в хорошо проветриваемом помещении или в специальных сушильных установках, где исследуемые объекты высушиваются при 105 °С. Минерализацию осуществляют с помощью мокрого или сухого озоления, либо путем экстракции минеральными кислотами [1, 2]. Сухое озоление проводят в присутствии добавок NH_4NO_3, $Mg(NO_2)_2$, $KClO_3$, H_2O_2, HNO_3, H_2SO_4 и др. [2], которые способствуют более быстрому и полному разложению проб при более низких температурах. Иногда в пробу перед озолением добавляют этиловый спирт с целью деструкции органической матрицы и ускорения процесса озоления. Таким образом, разные добавки позволяют интенсифицировать процесс сухого озоления и уменьшить потери определяемых элементов.

Нами исследованы различные способы пробоподготовки применительно к грибам. В основе выбора оптимального варианта положены максимально-эффективное выделение матричных и примесных элементов и оценка метрологических характеристик при статистической обработке результатов измерений.

Таблица 1. *Влияние способа пробоподготовки на результаты определения фосфора в подберезовике, мас. %*

Озоление				Химическое разложение (H_2SO_4, H_2O_2)
Без добавок	с C_2H_5OH	с HNO_3	с H_2SO_4	
1,80±0,02	1,00±0,02	0,76±0,02	0,93±0,02	0,96±0,02

По величине оптической плотности аналитических спектральных линий, полученных в результате проведения качественного спектрального анализа отчетливо обозначились две группы присутствующих в грибах элементов: макро- (P, K, Na, Mg, Ca, Si) и микрокомпоненты – (Al, B, Fe, Mn, Cu, Zn, Ti, Pb). Наиболее летучими из них являются соединения P, B, Cu, Zn, Pb, по которым оценивали эффективность пробоподготовки. На примере самого летучего элемента – фосфора (табл. 1) показано влияние способа проботодготовки на полноту его перевода в концентрат. Фосфор определяли в растворе, полученном либо после химического разложения грибов, либо после растворения их зольного остатка в HCl (0,1 моль/л) спектрофотометрическим методом в виде фосформолибденовой гетерополикислоты. Результаты анализа в пересчете на зольный остаток грибов показали, что в случае сухого озоления проб без добавок реагентов содержание фосфора максимально. Это объясняется тем, что при термическом озолении в присутствии H_2SO_4 и HNO_3 большинство органических соединений разрушается, углерод частично восстанавливается, а металлы, входящие в состав органических соединений, образуют в основном сульфаты или оксиды, но не фосфаты, которые менее летучи, чем другие соединения фосфора.

Этанол способствует деструкции органической основы, однако какая-то часть органического углерода восстанавливается, а он, в свою очередь, действует на фосфаты, восстанавливая фосфор. При озолении без добавок углерод восстанавливается медленнее, фосфор связывается с минеральными компонентами в фосфаты, характеризующиеся высокими температурами плавления и кипения, что в свою очередь обеспечивает более полное поступление атомов в зону разряда. Эффективность пробоподготовки так же оценивали по наиболее летучим микроэлементам (B, Cu, Zn), содержание которых определяли в золе грибов по величине аналитического сигнала с учетом контрольного опыта. Получены аналогичные результаты, подтверждающие правильность выбора в качестве способа пробоподготовки сухого озоления без добавок. Таким образом, сухой способ озоления, в едином цикле соединяющий процесс минерализации органической составляющей проб с получением аналитического концентрата, удобен для последующего анализа и не требует дополнительного использования реактивов. В процессе сухого озоления происходит сначала обугливание озоляемого материала, а затем его полная минерализация. При бурном протекании обугливания вместе с выделением дыма и газов возможны механические потери определяемых элементов. Поэтому пробу необходимо помещать в холодную муфельную печь и постепенно повышать температуру до 450 °С.

2. Валовое определение основных элементов в грибах

Необходимость определения основных элементов при разработке методики АЭА грибов обусловлена возможными матричными эффектами, которые способны оказать влияние на правильность определения микроэлементов. Содержание макрокомпонентов в золе различных видов грибов и интервалы их варьирования представлены в табл. 2. Определение проводили методами спектрофотомерии, пламенной фотометрии и атомно-эмиссионной спектроскопии. Для сравнения в этой же таблице приведены данные о составе золы растений [3]. Видно, что преобладающими макрокомпонентами, входящими в состав грибов (табл. 2), являются калий, фосфор и кремний. Их содержание варьируется в пределах порядка и более. Кремний имеет высокий потенциал ионизации (8,149 эВ [4]), он не летуч и по своему поведению в плазме дуги подобен углероду, т.е. обладает буферирующим действием, уменьшая взаимное влияние других элементов. Значительное количество калия и фосфора в грибах способно оказывать мешающее влияние на определение контролируемых примесей за счет изменения процессов их испарения и параметров плазмы дугового разряда. Подобного рода влияния необходимо учитывать при разработке методики АЭА грибов на содержание ТМ.

Таблица 2. *Содержание основных компонентов в золе грибов и растений, мас. %*

Объект	K	Na	Si	Ca	Mg	P	Al
Грибы	20...50	0,1...1,0	0,5...10,0	0,1...1,0	0,1...0,5	0,5...2,0	0,01...0,05
Растения	15...20	2...7	2...10	5...10	1...6	4...7	отсутств.

Остальные компоненты, содержащиеся в грибной золе в значительно меньших количествах, существенного влияния на определение микропримесей не оказывают.

3. Устранение влияния матричных элементов при определении тяжелых металлов

Матричное влияние калия и фосфора исследовано на модельных смесях, приготовленных путем введения на графитовый коллектор постоянной концентрации примесей (5×10^{-3} мас. %) и переменной концентрации матричных элементов калия и фосфора. Исследования проводили путем: 1) расчета эффективных параметров плазмы дугового разряда (температуры, электронной концентрации) и потенциалов ионизации определяемых элементов (табл. 3); 2) развертки спектра во времени 3) регистрации интегрального аналитического сигнала примесей.

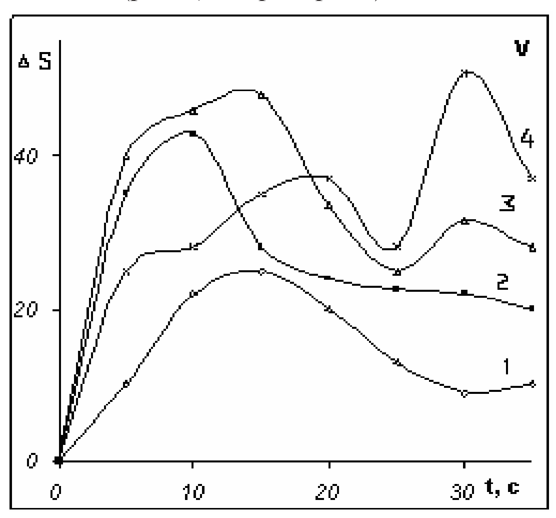
Из табл. 3 видно, что в присутствии калия происходит уменьшение температуры плазмы дугового разряда между графитовыми электродами, что обусловлено низким значением потенциала его ионизации (4,339 эВ [4]). Между температурой (T) и электронной концентрацией ($n_{\bar{e}}$) получена отрицательная корреляция: по мере роста концентрации калия происходит увеличение $n_{\bar{e}}$ и снижение T, что хорошо согласуется с литературными данными.

Таблица 3. *Эффективные температура плазмы дуги, электронная концентрация и степень ионизации элементов-примесей в зависимости от содержания калия*

Содержание калия, мас. %	T, K	$n_{\bar{e}}\cdot10^{15}$ см$^{-3}$	Степень ионизации атомов, %		
			Co	Mo	V
0	6370	0,4	0,77	0,91	0,96
5	5900	0,8	0,32	0,70	0,80
10	5700	1,5	0,12	0,30	0,65

Интенсивность элементов с низкими потенциалами ионизации (V, Ti, Cu) возрастает в присутствии калия. Это связано с уменьшением их степени ионизации.

Кривые испарения этих элементов (рис. 1, на примере V) в присутствии калия лежат выше кривой испарения, полученной без калия. При этом калий не оказывает влияния на продолжительность экспозиции, т.е. не влияет на процесс массопереноса. При максимальном содержании калия (кривая 4) температура плазмы становится низкой и недостаточной для возбуждения элементов, склонных к образованию труднолетучих карбидов (Mo, Ti, V). Поэтому их сигнал, проходя через максимум, уменьшается, а на кривых испарения-возбуждения появляются вторичные максимумы, смещенные к концу экспозиции. Аналитический сигнал элементов с более высокими потенциалами ионизации, не меняется, либо уменьшается в присутствии калия. Это объясняется только уменьшением температуры плазмы, которая недостаточна для их возбуждения, поэтому кривые испарения этих элементов лежат ниже кривой испарения, полученной без калия (рис. 1, на примере Fe).



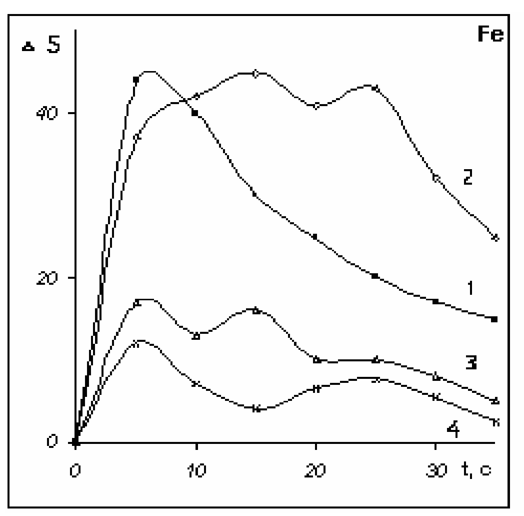


Рис. 1. *Зависимость аналитического сигнала от времени испарения для V, Fe: 1) без K; 2) 1; 3) 5; 4) 10 мас. % K*

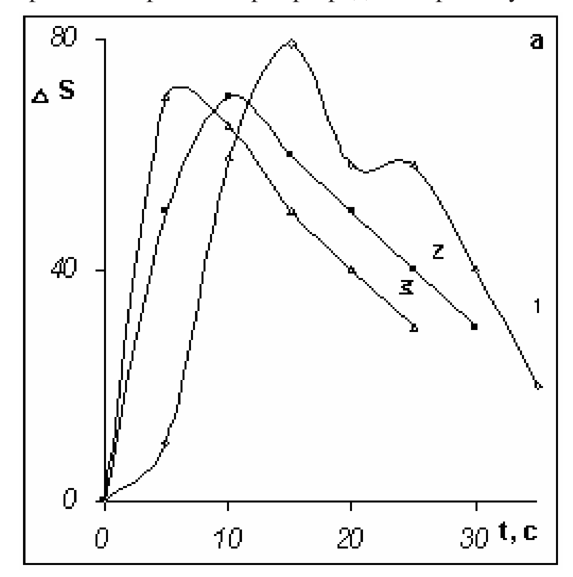
Таким образом, неоднозначное влияние калия на аналитический сигнал примесей связано с изменением параметров плазмы дугового разряда.

Фосфор имеет высокий потенциал ионизации (10,484 эВ [4]) и низкие температуры кипения соединений, поэтому должен в большей степени влиять на первичные процессы в дуговом разряде.

Сравнительный анализ кривых испарения показал (рис. 2, *а*), что в присутствии фосфора, с увеличением его содержания происходит преимущественное развитие первых максимумов и смещение их к началу экспозиции, а также уменьшение или полное исчезновение вторичных максимумов.

Нами проведена приближенная количественная интерпретация этих кривых по методу В.Р. Огнева [5] и рассчитаны значения констант скорости испа-

рения примесей (табл. 4), которые увеличиваются с увеличением содержания фосфора. Причиной этого является возрастание струйности течения паров благодаря фосфору, который, как показано на рис 2, *б*, поступает в зону разряда в первые моменты горения дуги и способствует усиленному переносу примесей. В результате уменьшается диффузия элементов в нижние слои пробы, дно и стенки электрода, усиливается их поступление из канала. Но аналитический сигнал не увеличивается, как следовало бы ожидать (рис. 2, *а*). Очевидно, что при больших скоростях паров среднее время пребывания атомов контролируемых элементов в разряде падает и определяется не скоростью диффузии, а временем пролета через разрядный промежуток.



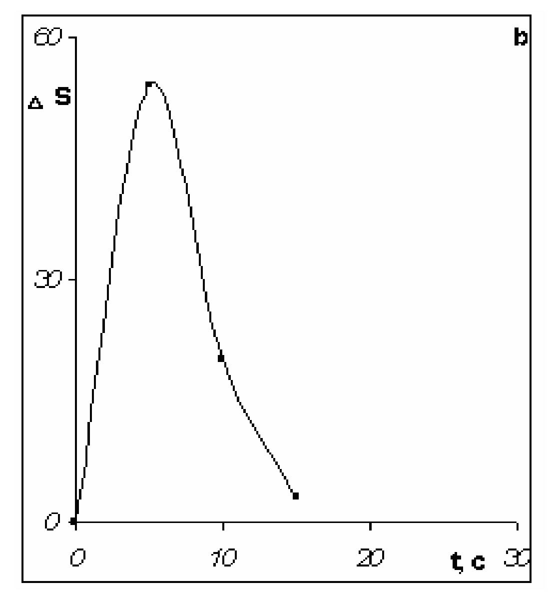


Рис. 2. *Зависимость аналитического сигнала от времени испарения для: а — марганца: 1) без Р; 2) 1; 3) 2 мас. % Р; b — фосфора*

Таким образом, преобладающие в грибах элементы калий и фосфор влияют как на параметры плазмы дуги, так и на процессы массопереноса. Для ослабления этого влияния нами использован прием разбавления зольных остатков проб буферными смесями, состоящими из графитового порошка с добавлением носителей, которые необходимы для улучшения метрологических характеристик.

Таблица 4. *Константы скорости испарения некоторых примесей в зависимости от состава пробы*

Определяемый элемент	Концентрация Р, мас. %	Константа испарения, мг·с$^{-1}$
Mn	0	29
	1	32
	2	39
B	0	25
	1	29
	2	34
Ti	0	31
	1	41
	2	49

В работе проведен эксперимент по выбору носителя, его концентрации в графитовом порошке в сочетании со степенью разбавления им зольного остатка грибов. Состав буфера варьировали добавлением к графитовому порошку NaCl или BiF_3 в концентрациях 1 или 5 мас. %, а разбавление зольного остатка проводили в 2, 5 и 7 раз. Спектры 15-и экспериментальных смесей (не менее 5-ти параллельных каждой), регистрировали на фотопластинку. Определяли интенсивность резонансных линий титана, железа, марганца, меди и цинка.

Статистическую обработку аналитических сигналов микроэлементов, выраженную через коэффициент вариации, проводили по программе Statistica 6.0 с помощью однофакторного непараметрического анализа Краскела-Валлиса сначала при группирующем признаке (разбавление), а затем – (состав буфера) [6]. Статистическая обработка результатов позволила выбрать оптимальную степень разбавления золы грибов и состав разбавителя для контролируемых элементов. Для всех элементов лучшим носителем оказался BiF_3, который способен эффективно регулировать параметры плазмы дугового разряда и устранять мешающее влияние матричных элементов, в особенности калия и фосфора. Для достижения наилучших результатов, следует рекомендовать разбавление золы грибов в 6 раз буфером, состоящим из графитового порошка с 3 мас. % Bi в виде BiF_3.

4. Атомно-эмиссионное определение микроэлементов в зольных остатках грибов

На основании проведенных исследований разработана методика прямого АЭА грибов на содержание ТМ и микроэлементов. Правильность методики проверена по железу спектрофотометрическим методом (СФ) и по меди методом атомно-абсорбционной спектроскопии (ААС), которые определяли в растворе, полученном после кислотного разложения зольного остатка грибов (табл. 5). Сличительные испытания, проведенные с использова-

нием статистических методов оценки результатов измерений [6], показали, что методы измерений равноточны, а расхождения результатов, полученных двумя методами, статистически не значимы.

Таблица 5. *Сравнение результатов, полученных при определении Fe и Cu в зольных остатках грибов независимыми методами*

Элемент	Методы анализа	Концентрация, мас. %	$F_{эксп.}=S_1^2/S_2^2$; $(S_1^2>S_2^2)$	$F_{табл.}(p=0,95; f_1=f_2=2)$	$t_{эксп.}$	$t_{табл.}$
Fe	АЭА	0,013±0,003	2,31	19,00	2,44	2,78
	СФ	0,015±0,002				
Cu	АЭА	0,017±0,004	1,78	19,00	2,57	2,78
	ААС	0,014±0,003				

Таблица 6. *Результаты анализа грибов на содержание тяжелых металлов, в мг/кг (в расчете на сухой остаток)*

Вид гриба	Ni	Pb	Cr	Mn	Fe	Cu	V	Ti	Cd	Sr
Шампиньон луговой	**0,76**	0,23	**1,8**	6,7	8,3	**47**	1,2	3,34	**0,05**	0,32
Строчок обыкновенный	0,41	**1,1**	**1,2**	10,1	3,3	**34**	0,68	0,46	–	0,20
Подберезовик	0,40	**0,98**	**1,0**	4,5	4,8	**5,9**	0,01	0,32	**0,05**	0,22
Масленок зернистый	0,46	**2,1**	**1,2**	3,1	1,6	**10,5**	0,78	–	–	0,37
Грибная капуста	0,20	**0,38**	**0,41**	3,6	7,5	2,4	–	0,33	–	–
Лисичка настоящая	**0,96**	**1,4**	**2,2**	6,1	5,0	21	1,6	0,02	**0,05**	0,39
Белый гриб	**2,2**	**2,7**	**1,0**	4,6	3,9	**10,0**	0,39	1,3	–	0,15
ПДК	0,5	0,2	0,2	–	15	5	–	–	0,01	–

Полужирным шрифтом выделены превышения ПДК. Погрешность определения 15...20 отн. %

Результаты анализа грибов на содержание ТМ, полученные по разработанной методике, приведены в табл. 6 в сравнении с предельно допустимыми концентрациями по пищевым продуктам. Обнаружено содержание никеля выше ПДК в шампиньоне, лисичке и белом грибе, кадмия – шампиньоне, лисичке и подберезовике, а хрома, меди и свинца – почти во всех исследованных грибах.

Заключение

На основании классических подходов к разработке методик атомно-эмиссионного анализа, заключающихся в оценке параметров плазмы дугового разряда, кинетических и термодинамических исследованиях высокотемпературных процессов, протекающих в источниках возбуждения, учета мешающих матричных влияний основы подбором спектроскопических буферных смесей, создана методика, позволяющая проводить оценку экологической безопасности по содержанию тяжелых металлов, аккумулирующихся в грибах-биоиндикаторах. Достоверность предлагаемой методики проверена по статистическим критериям и неоднократно опробована на реальных объектах.

Работа выполнена при поддержке гранта Министерства образования РФ Шифр Е02-12.6-375 "Термодинамическое моделирование плазменных процессов и его использование при разработке и совершенствовании методик анализа объектов окружающей среды методами атомно-эмиссионной спектроскопии"

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Карякин А.В., Грибовская И.Ф. Эмиссионный спектральный анализ объектов биосферы. — М.: Химия, 1979. — 208 с.
2. Бок Р. Методы разложения в аналитической химии. — М.: Химия, 1984. — 205 с.
3. Зырин Н.Г., Обухов А.И. Спектральный анализ почв, растений и других биологических объектов. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 1977. — 322 с.
4. Русанов А.К. Основы количественного спектрального анализа руд и минералов. — М.: Недра, 1978. — 400 с.
5. Огнев В.Р., Огнева Э.Я., Заирова Т.М. Влияние скорости испарения элементов примесей на их градуировочные графики // Спектроскопия и ее применение в геофизике и геохимии. — М.: Мир, 1975. — С. 29—32.
6. Дерффель К. Статистика в аналитической химии. — М.: Мир, 1994. — 205 с.